



## Skrining Potensi Andrografolid dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm F.) Ness.) sebagai Antikanker Payudara secara *In Silico*

Laksmiani, N. P. L.<sup>1</sup>, Widiastari, M. I.<sup>1</sup>, Reynaldi, K. R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Putu Linda Laksmiani

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email: lindalaksmiani@gmail.com

### ABSTRAK

Kandungan utama yang dimiliki oleh tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness.) yaitu andrografolid merupakan senyawa golongan diterpen lakton yang diketahui memiliki berbagai aktivitas salah satunya sebagai antikanker. Salah satu penyebab terjadinya kanker payudara yaitu adanya ekspresi berlebih dari protein *Human Epidermal Receptor-2* (HER-2) yang dapat menginduksi terjadinya dimerisasi dan autofosforilasi sehingga memicu terjadinya aktivasi *Focal Adhesion Kinase* (FAK) yang dapat mengakibatkan migrasi dan metastasis pada sel kanker payudara. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui mekanisme penghambatan ekspresi berlebih dari protein HER-2 oleh senyawa andrografolid secara *in silico* dengan menggunakan *molecular docking*.

Metode *in silico* seperti *molecular docking* dilakukan dengan melalui beberapa tahapan seperti validasi metode, optimasi struktur senyawa andrografolid 3D, *docking* antara senyawa andrografolid teroptimasi dengan protein HER-2 yang mengacu pada parameter energi ikatan dimana semakin rendah nilai energi ikatan maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terjadi antara senyawa andrografolid dengan protein HER-2.

Hasil *docking* yang diperoleh menunjukkan energi ikatan senyawa andrografolid dengan protein HER-2 yaitu -6,63 kkal/mol, sedangkan energi ikatan *native ligand* dengan protein HER-2 adalah -5,77 kkal/mol. Energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa senyawa andrografolid yang terkandung dalam tanaman sambiloto memiliki potensi sebagai antikanker payudara karena mampu menekan ekspresi berlebih dari protein HER-2.

Kata Kunci : andrografolid, *in silico*, *molecular docking*, kanker payudara, HER-2

### 1. PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan penyakit yang sering ditemukan di seluruh dunia dengan insiden yang relatif tinggi yaitu 20% dari seluruh keganasan (Tjahjadi, 1995). Di Indonesia, kanker payudara menempati urutan kedua setelah kanker leher rahim, dimana diperkirakan 10 dari 100.000 penduduk terkena kanker payudara dan 70% dari penderita baru memeriksakan dirinya pada stadium lanjut (Ana, 2007).

30% kasus kanker payudara disebabkan oleh adanya ekspresi berlebih dari protein *Human Epidermal Receptor-2* (HER-2) (Gibbs, 2000). Invasi sel kanker dapat terjadi akibat ekspresi berlebih protein HER-2. Ekspresi berlebih protein HER-2) mampu menginduksi terjadinya proses migrasi dan metastasis sel

kanker melalui induksi dimerisasi secara spontan, autofosforilasi, dan terjadinya aktivasi *focal adhesion kinase* (FAK) (Johnson *et al.*, 2010). Beberapa pengobatan telah dilakukan untuk mengobati pasien yang menderita kanker payudara, akan tetapi pengobatan yang diberikan belum memberikan hasil yang memuaskan, bahkan efek dari kegagalan salah satu terapi yaitu dengan pembedahan dapat menyebabkan kanker menyebar ke bagian tubuh lainnya dengan kondisi yang parah (Nafrialdi dan Gunawan, 2007). Hal ini menunjukkan perlunya dilakukan suatu pengembangan obat baru yang selektif terhadap sel kanker payudara dengan menggali senyawa-senyawa alam potensial yang berasal dari tumbuhan.



Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness.) merupakan salah satu tanaman bahan alam yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan oleh masyarakat Indonesia karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi, salah satunya sebagai antikanker. Andrografolid sebagai kandungan utama (*biomarker*) pada tanaman sambiloto termasuk ke dalam golongan diterpen lakton (Valdiani *et al.*, 2012). Andrografolid sebagai antikanker diketahui dapat menghambat NF- $\kappa$ B pada DNA yang mengakibatkan meningkatnya *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  sehingga dapat menginduksi apoptosis (Hidalgo *et al.*, 2005). Akan tetapi, mekanisme andrografolid dalam menghambat ekspresi berlebih dari protein HER-2 sebagai antikanker payudara belum diketahui secara pasti.

Teknik *molecular docking* secara *in silico* dapat digunakan untuk memprediksi bagaimana suatu protein dapat berinteraksi dengan suatu senyawa aktif, sehingga aktivitas dari senyawa bioaktif dapat diketahui. Metode tersebut akan meningkatkan efektivitas dan efisiensi dari penelitian mengenai penemuan obat baru. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui mekanisme penghambatan terhadap ekspresi berlebih protein HER-2 oleh andrografolid dari sambiloto melalui simulasi secara *in silico*.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1 Bahan

Struktur 3D protein HER-2 (pdb id: 3PP0) yang diunduh dari <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> dan struktur 3D senyawa andrografolid dengan kode 5318517 diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>.

### 2.2 Alat

Chimera 1.10.1, Hyperchem 8, Open Babel, dan Autodock 4.2.

### 2.3 Prosedur Kerja

#### 2.3.1 Preparasi Protein HER-2

Protein HER-2 yang telah diunduh kemudian dihilangkan *native ligand*-nya menggunakan program Chimera 1.10.1 yang bertujuan untuk menyediakan ruang (*pocket/cavity*), sehingga diketahui bentuk

*pocket* dan koordinat *pocket* sebagai bahan *docking*.

#### 2.3.2 Validasi Metode

Validasi metode dilakukan dengan *docking*-kan kembali *native ligand* pada protein yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya dengan menggunakan program Autodock 4.2.

#### 2.3.3 Optimasi Struktur 3D Andrografolid

Optimasi dilakukan pada struktur 3D senyawa andrografolid lengkap dengan atom hidrogennya dengan metode komputasi semi-empiris AM1, dan kalkulasi dengan *single point* serta geometri optimisasi.

#### 2.3.4 Docking Andrografolid terhadap Protein HER-2

Andrografolid teroptimasi di-*docking*-kan pada protein HER-2 yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya dengan menggunakan program Autodock 4.2. Hasil analisis akan menunjukkan konformasi andrografolid dengan energi ikatan terendah untuk dapat berikatan dengan protein HER-2.

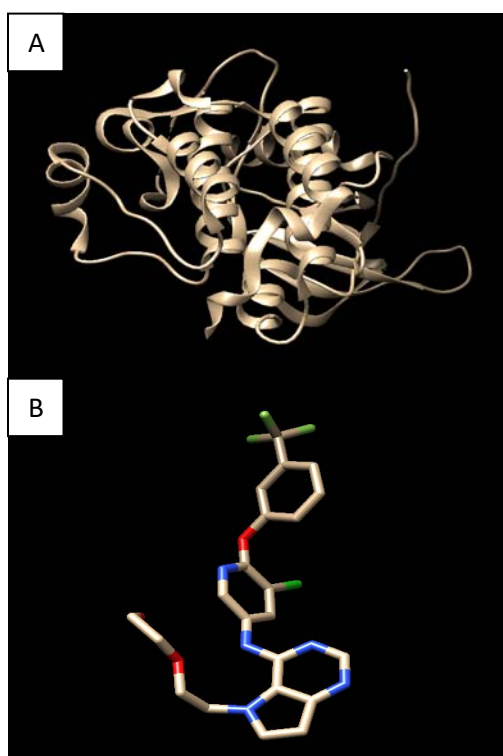
## 2.4 Analisis Data

Hasil *docking* berupa energi ikatan yang menunjukkan kekuatan ikatan antara andrografolid dengan protein HER-2. Energi ikatan andrografolid dibandingkan dengan energi ikatan *native ligand* terhadap protein HER-2. Energi ikatan yang rendah menunjukkan kekuatan dan stabilitas ikatan yang lebih baik, sehingga andrografolid memiliki potensi sebagai antikanker payudara.

## 3. HASIL

### 3.1 Preparasi Protein HER-2

Protein HER-2 yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> dengan pdb id: 3PP0. Preparasi dilakukan dengan menggunakan program Chimera 1.10.1 sehingga hasil yang diperoleh yaitu protein tanpa *native ligand*-nya dan *native ligand*. Hasil preparasi protein dapat dilihat pada Gambar 1.



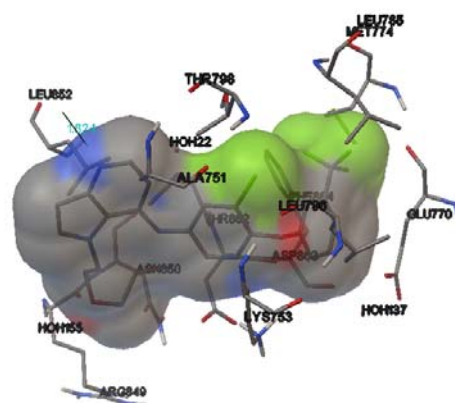
Gambar 1. Struktur Protein HER-2 tanpa *Native Ligand* (A) dan *Native Ligand* (B)

### 3.2 Validasi Metode

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan men-*docking*-kan kembali protein tanpa *native ligand* dengan *native ligand*-nya dengan menggunakan program autodock 4.2. Hasil dan interaksi yang terjadi pada validasi metode *molecular docking* dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Hasil Validasi Metode *Docking Molecular Protein HER-2*

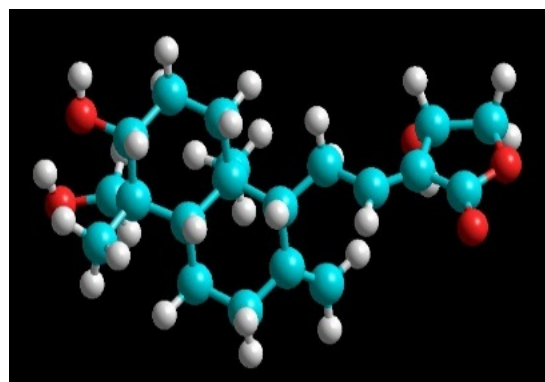
Konformasi	RMSD (Å)	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen
1	1.42	-5.77	-
2	1.88	-4.97	-
3	5.41	-4.53	Asp863 Thr862
4	5.12	-4.14	-
5	2.68	-3.03	-
6	2.90	-2.33	Met801
7	2.48	-1.57	Arg849 Ser728
8	2.58	-1.09	-
9	3.23	-0.90	Met801
10	4.62	-0.25	-



Gambar 2. Interaksi antara Protein HER-2 dengan *Native Ligand*.

### 3.3 Optimasi Struktur 3D Andrografolid

Dilakukan optimasi struktur 3D senyawa andrografolid yang telah diunduh dengan menggunakan program HyperChem 8. Struktur 3D senyawa andrografolid yang telah teroptimasi dapat dilihat pada gambar 3.



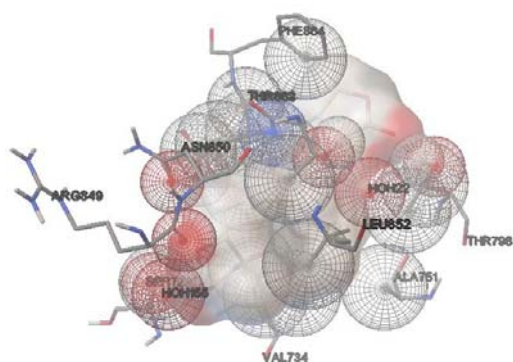
Gambar 3. Hasil Optimasi Struktur 3D Senyawa Andrografolid.

### 3.4 Docking Andrografolid terhadap Protein HER-2

*Docking* andrografolid terhadap protein HER-2 dilakukan dengan menggunakan program autodock 4.2. Pengaturan koordinat pada proses *docking* andrografolid terhadap protein HER-2 disesuaikan dengan koordinat pada saat validasi metode (*docking native ligand* terhadap protein HER-2). Hasil dan interaksi yang terjadi pada *docking* senyawa andrografolid terhadap protein HER-2 dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 4.

Tabel 2. Hasil *Docking* Andrografolid terhadap Protein HER-2

Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen
1	-6,63	-
2	-6,22	Asp863
3	-6,18	Asp863
4	-5,48	-
5	-5,36	Ser728 Thr862
6	-5,14	-
7	-5,13	Ser728
8	-1,55	Asp863
9	-1,18	Asp863
10	-1,17	-



Gambar 4. Interaksi antara Andrografolid dan Protein HER-2

#### 4. PEMBAHASAN

Tahap awal yang dilakukan yaitu preparasi protein yang bertujuan untuk memperoleh struktur protein tanpa *ligand* dan *native ligand*-nya (tersedia ruang/*pocket/cavity*) dimana rantai yang dipilih yaitu rantai A. Pada saat preparasi molekul H<sub>2</sub>O pada rantai A protein tanpa *native ligand* tersebut dihilangkan sehingga pada saat dilakukan *docking* senyawa uji dapat berinteraksi sempurna dengan protein (Kitchen *et al.*, 2004).

Validasi *molecular docking* bertujuan untuk mengetahui kemiripan konformasi antara kompleks *native ligand*-protein secara kristalografi dibandingkan dengan hasil eksperimen (Luthfiah dan Santoso, 2014). Parameter validasi untuk *docking* dinyatakan dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang menunjukkan tingkat penyimpangan hasil *docking ligand* secara eksperimen terhadap *ligand* hasil kristalografi pada *binding site* yang sama. Semakin kecil

nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native* (Agistia dkk., 2013). Nilai RMSD  $\leq 3\text{\AA}$  menyatakan bahwa metode yang digunakan valid (Susanti dkk., 2015).

Preparasi struktur senyawa andrografolid dilakukan dengan mengoptimasi struktur andrografolid 3D menggunakan program HyperChem 8 yang bertujuan untuk mendapatkan struktur yang stabil. Energi yang dihasilkan senyawa andrografolid setelah dilakukan kalkulasi *single point* energi sebesar -5471,48 kkal/mol dan mengalami penurunan menjadi -5509,50 kkal/mol setelah dilakukan *geometry optimization* yang bertujuan untuk meminimalisasi energi sehingga diperoleh struktur senyawa andrografolid 3D yang lebih stabil (Fitriasari, 2008).

*Docking* senyawa andrografolid pada protein HER-2 menghasilkan energi ikatan sebesar -6,63 kkal/mol yang dapat dilihat pada tabel 2. Apabila dibandingkan dengan *native ligand* sebagai kontrol positif untuk menentukan seberapa kuat dan stabil ikatan, energi ikatan yang dihasilkan oleh andrografolid lebih rendah (lebih negatif) dari energi ikatan *native ligand* yang diperoleh yaitu -5,77 kkal/mol yang menandakan bahwa andrografolid memiliki ikatan yang lebih kuat dan stabil dibandingkan dengan *native ligand*. Pada hasil *docking* andrografolid tidak ditemukan adanya ikatan hidrogen dimana hal yang sama juga terjadi pada *native ligand*. Berdasarkan perbandingan hasil energi ikatan yang diperoleh antara andrografolid dengan *native ligand* maka dapat diketahui bahwa andrografolid pada tanaman sambiloto memiliki aktivitas antikanker payudara dengan cara menghambat ekspresi berlebih dari protein HER-2. Adanya ekspresi berlebih protein HER-2 dapat mengakibatkan terjadinya proliferasi yang tidak terkontrol, proses migrasi dan metastasis sel kanker payudara (Laksmiani dkk., 2015).

#### 5. KESIMPULAN

Andrografolid yang terkandung dalam tanaman sambiloto memiliki aktivitas antikanker payudara melalui penghambatan ekspresi berlebih protein HER-2 dengan energi ikatan -6,63 kkal/mol.





## 6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen-dosen, teman-teman, serta semua pihak yang telah membantu dalam proses pengerjaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agistia, D.D., H. Purnomo, M. Tegar, dan A.E. Nugroho. 2013. Interaksi Senyawa Aktif dari Aegle marmelos Correa. Sebagai Antiinflamasi dengan Reseptor Cox-1 dan Cox-2. *Trad. Med. J.* Vol. 18 (2): 80-87.
- Ana, K. 2007. *Panduan Lengkap Kesehatan Wanita*. Yogyakarta: Gala Ilmu Semesta.
- Fitriasari, A., N. K. Wijayanti, N. Ismiyati, D. Dewi, W. Kundarto, B. S. A. Sudarmanto dan E. Meiyanto. 2008. Studi Potensi Kurkumin dan Analognya sebagai Selective Estrogen Receptor Modulator (SERMs): Docking pada Reseptor Estrogen  $\beta$ . *Pharmacol.* Vol. 9(1).
- Gibbs, J. B. 2000. Mechanism-Based Target Identification and Drug Discovery in Cancer. *Science*. Vol. 287:1969-1973.
- Hidalgo, M.A., A. Romero, J. Figueroa, P. Cortes, I.I. Concha. 2005. Andrographolide Interferes with Binding of Nuclear Factor- $\kappa$ B to DNA in HL-60-Derived Neutrophilic Cells. *British Journal of Pharmacology*. Vol. 144: 680-686.
- Johnson, S. C., C. S. Dweck, F. S. Chen, H. L. Stern, S. J. Ok, and M. Barth. 2010. At The Intersection of Social and Cognitive Development: Internal Working Models of Attachment in Infancy. *Cognitive Science A Multidisciplinary Journal*. Vol. 34: 807-825.
- Kitchen, D. B., H. Decornez, J. R. Furr, and J. Bajorath. 2004. Docking and Scoring in Virtual Screening in Drug Discovery, Methods and Applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* Vol. 3: 935-949.
- Laksmiani, N.P.L., Susidarti, R.A., Meiyanto, E. 2015. Brazilein Increases The Sensitivity of Doxorubicin on MCF-7 Resistant Doxorubicin (MCF-7/DOX) Cells Through Inhibition of HER-2 Activation. *Int J Pharm Pharm Sci*. Vol 7(2): 525-528
- Luthfiyah Y. dan B. Santoso. 2014. Pemodelan Tiga Dimensi (3D) Ikatan Hasil Docking Molekular Turunan Diketopiperazin (DKP) dengan Bcl-2 pada Sel MCF-7. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nafrialdi dan Gunawan, S. G. 2007. *Antikanker, Farmakologi dan Terapi*. Edisi ke-5. Jakarta: Departemen Farmakologi Dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Susanti, N.M.P, Laksmiani, N.P.L., Warditiani, N.K., Sunariyani, P.E.A. 2015. Anti Aterosklerosis Andrografolid dari Sambiloto melalui Mekanisme Antiinflamasi secara *In Silico*. Vol 4(1): 8-12)
- Tjahjadi, G., 1995. *Patologi Tumor Ganas Payudara, Kursus Singkat Deteksi Dini dan Pencegahan Kanker*. Jakarta: FKUI-POI.
- Valdiani, A., M.A. Kadir, S.G. Tan, D. Talei, M.P. Abdullah, S. Nikzad. 2012. Nain-e Havandi Andrographis paniculata Present Yesterday, Absent Today: a Plenary Review on Underutilized Herb of Iran's Pharmaceutical Plants. *MolBiol Rep.* Vol. 39:5409-5424